

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Hans Herken

STÖRUNGEN DES ELEKTROLYT- UND WASSER-
HAUSHALTS NACH BILDUNG ABNORM STRUK-
TURIERTER NAD- bzw. NADP- ANALOGA

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Brigitte Zemisch
aus Berlin

1964

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Hans Herken

STÖRUNGEN DES ELEKTROLYT- UND WASSER-
HAUSHALTS NACH BILDUNG ABNORM STRUK-
TURIERTER NAD- bzw. NADP - ANALOGA

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Brigitte Zemisch
aus Berlin

002/67
Dekan: Professor Dr.med. Hugo Gasteiger

Referent: Priv.Do. Dr.med. Gerhard Senft

Korreferent: Professor Dr.med. Hans Herken



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 29.2.1964

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
Einleitung	5
Methodik	7
Infusionsversuche	7
Clearanceuntersuchungen	8
Stop flow Versuche	8
Messung der Elektrolytverteilung zwischen dem extra- und intracellulären Raum der Leber und des Skelettmuskels	9
Ergebnisse	12
I. Entwicklung der Störung im Elektrolyt- und Wasserhaushalt nach intravenöser Injektion von 6-AN	12
II. Nachweis tubulärer Störungen nach Einwirkung von 6-AN	15
III. Lokalisation der tubulären Resorptionsstörung	16
IV. Der Einfluß von 6-AN auf die Natrium- und Kaliumbilanz bei adrenalekt. Tieren	18
V. Die renale Wirkung des Aldosterons nach Zufuhr von 6-AN	20
VI. Der Einfluß des 6-AN auf die Wirkungen von Diuretica	22
a) mit proximalem Angriffspunkt	22
b) mit distalem Angriffspunkt	25
VII. Der Einfluß von Triamterene auf die durch 6-AN erzeugte Stoffwechselstörung	27
VIII. Extrarenale Wirkungen des 6-AN	29
a) Veränderungen der Elektrolyt- und Wasser- verteilung zwischen dem intra- und extra- cellulären Raum der Leber	29
b) Veränderungen der Elektrolyt- und Wasser- verteilung zwischen dem intra- und extra- cellulären Raum der Skelettmuskulatur	31
α) bei Tieren mit Nebennieren	31
β) bei adrenalektomierten Tieren	33

	<u>Seite</u>
IX. Störung der renalen Natriumausscheidung nach Einwirkung von 3-AP	34
X. Der Einfluß von 3-AP auf die Elektrolyt- und Wasserverteilung in der Leber	35
Diskussion	38
Zusammenfassung	46
Literaturverzeichnis	48

Einleitung

6-Aminonikotinamid ^{†)} und 3-Acetylpyridin bewirken bei Ratten zentralnervöse Funktionsstörungen.

Nach Gabe von 6-AN treten nach einer mehrstündigen Latenzperiode schlaffe Lähmungen auf, die zuerst an den hinteren Extremitäten sichtbar werden. Die Paralyse hat einen progredienten Verlauf, so daß später die gesamte Skelettmuskulatur betroffen wird. Nach Untersuchungen von STERNBERG und PHILIPS (1958) sowie WOLF und COWEN (1959) handelt es sich dabei um die Folgen einer Rückenmarks-läsion.

3-AP bewirkt Erregungszustände, in deren Verlauf sich ständig wiederholende, langanhaltende Rollkrämpfe und Gleichgewichtsstörungen zeigen (COPER und HERKEN, 1963). Sehr wahrscheinlich hängen diese Störungen mit den zuerst von HICKS (1955) sowie COGGESHALL und McLEAN (1958) histologisch nachgewiesenen Läsionen bestimmter Hirngebiete, besonders des Hippocampus, zusammen.

Am Zustandekommen der Wirkung von 3-AP und 6-AN ist die mangelnde Spezifität einer Nucleosidase beteiligt (KAPLAN und CIOTTI, 1954 und 1956; JOHNSON und McCOLL, 1955; DIETRICH, FRIEDLAND und KAPLAN, 1958; BRUNNEMANN, COPER und HERKEN, 1962). Dieses Ferment hydrolysiert die oxydierten Pyridinnucleotide zwischen der Ribose und dem N-Atom des Pyridinderivats. Außerdem wirkt das Ferment als Transferase. Der Austausch ist von der Konzentration des Nikotinsäureamids bzw. der Antimetaboliten 6-AN oder 3-AP abhängig.

^{†)} Abkürzungen: NAD (DPN) = Nikotinamid-Adenin-Dinucleotid
(Diphosphopyridinnucleotid)
NADP (TPN) = Nikotinamid-Adenin-Dinucleotid-2-phosphat
(Triphosphopyridinnucleotid)
3-AP = 3-Acetylpyridin
6-AN = 6-Aminonikotinsäureamid
6-ANAD = 6-Aminonikotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid
6-ANADP = 6-Aminonikotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid-2-phosphat.

Über diesen Mechanismus werden 6-AN und 3-AP an Stelle von Nikotinsäureamid auf Adenosindiphosphatribose übertragen und abnorm strukturierte Analoga des NAD bzw. NADP gebildet.

Bei der Prüfung der Folgen einer 6-ANAD-bzw. 6-ANADP-Bildung wurde festgestellt, daß die abnorm strukturierten Analoga als Coenzyme der wasserstoffübertragenden Fermente unwirksam sind (COPER und HERKEN, 1963; DIETRICH, FRIEDLAND und KAPLAN, 1958).

Auch die Entstehung 3-AD enthaltender Analoga führt zu einer starken Verlangsamung der enzymatischen Umsetzungen, die an der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase, der 6-Phosphogluconsäuredehydrogenase und der Glutathionreductase (COPER und NEUBERT, 1963) gemessen wurde.

In unseren Untersuchungen sollte geprüft werden, ob hierdurch der Ionentransport in der Niere und in anderen Organen beeinflußt wird.

Methodik

I. Infusionsversuche

Zur Prüfung der renalen Wirkungen des 6-AN und 3-AP, sowie zur Bestimmung des Beginns und der Intensität der Störung verwendeten wir die von HERKEN, SENFT, SCHWARZ und MERKER (1963) angegebene Methode. An Stelle einer oralen Zufuhr wurde die Infusionslösung intravenös verabfolgt. Auf diese Weise wurden die Resorptionsstörungen vermieden, die nach oraler Infusion bei adrenaletomierten Tieren auftreten können.

Die Tiere wurden dabei in Plexiglaskäfigen gehalten, die eine getrennte Harn- und Stuhlsammlung erlauben. Zur Vorbereitung der Tiere wurde am Tage zuvor eine Zahnkrone mit Kanülenrohr in Hexobarbitalnarkose am Oberkieferzahn mit Kunststoff (Technovit) befestigt. Vor Beginn des Experiments wurde ein Schlauch aus Polyvinylchlorid mit einer Überwurfmutter an das Kanülenrohr angeschraubt und durch eine Öffnung am Boden des Käfigs nach außen geleitet. An das untere Ende des Schlauches wurde eine Plexiglas Mutter geschraubt, deren Durchmesser größer ist als die Öffnung im Käfig. Diese Befestigung erlaubt den Tieren zwar sich zu bewegen, verhindert aber, daß sie sich umdrehen.

Zur intravenösen Infusion wurde in eine Schwanzvene eine Kanüle geschoben, an die ein Katheter aus Polyvinylchlorid angeschmolzen ist. Der Katheter wurde über ein Ventil an den Infusionsapparat angeschlossen. Die Käfige befanden sich in einer temperaturkonstanten Plexiglaskammer, um die extrarenalen Verluste konstant zu halten. Der Urin wurde mit Hilfe von Glastrichtern aufgefangen und durch ein ausgezogenes Glasrohr aus der Plexiglaskammer geleitet. Die Infusionsgeschwindigkeit betrug 5ml/Tier und Stunde. Die Infusionslösung enthielt 0,2 % NaCl, durch Zusatz von Glucose (4,3 g ad 100 ml) wurde sie äquilibriert:

II. Clearanceuntersuchungen

Als Maß für die glomeruläre Filtration benutzten wir die Inulin-clearance.

Die Tiere erhielten je 7,5 ml/kg einer 2%igen Inulinlösung subcutan und intraperitoneal injiziert. 15 Minuten danach begann die Clearanceperiode, die eine Dauer von 15 Minuten hatte. Während dieser Zeit wurde der Urin gesammelt, bei Versuchsende die Urethra abgeklippt, die Tiere dekapitiert und das Blut in Zentrifugengläsern aufgefangen. Die Blase wurde präpariert, unterbunden, eröffnet und mit destilliertem Wasser ausgespült. Im Urin und Serum wurden Inulin, Natrium und Kalium bestimmt.

Die Inulinbestimmung erfolgte nach der von FÜHR, KACZMARCZYK und KRÜTTGEN (1955) angegebenen Methode mit Anthron. 0,2 ml Serum wurden mit 1,8 ml 4%iger Trichloressigsäure enteiweißt und der Niederschlag abzentrifugiert. Der Urin wurde 1 : 10 verdünnt.

Das Anthronreagenz enthält 0,2% Anthron gelöst in Schwefelsäure, die aus 2,5 Volumen konzentrierter Schwefelsäure und 1 Volumen Aqua dest. hergestellt wird. 5 ml dieser Anthronlösung wurden in Jenaer Reagenzgläser gefüllt und mit 0,5 ml des Serumüberstandes bzw. Urins überschichtet. Die Reagenzgläser wurden mit Gummistopfen verschlossen, umgeschüttelt und 10 min auf 55°C erhitzt, abgekühlt und sofort bei 578 m μ mit einem Beckmann Photometer Modell DU gemessen.

III. Stop flow Versuche

Mit Hilfe der von MALVIN, WILDE und SULLIVAN (1958) angegebenen Stop flow Methode gelingt es, zwischen proximalen und distalen Funktionen der Nierentubuli zu differenzieren.

Es wurden 250 - 300 g schwere männliche Sprague Dawley Ratten verwendet.

5 Stunden vor Beginn der Stop flow Analyse wurde 6-AN intraperitoneal injiziert. Zur Erzeugung einer osmotischen Diurese wurden 0,4 ml einer 20%igen Mannitlösung/Tier und min in eine Schwanzvene infundiert. Die Lösung enthielt außerdem:

0,9	% NaCl
0,089	% KCl
0,025	% CaCl_2
0,02	% NaHCO_3
0,10	% PAH
2,00	% Inulin

Der Bauchraum wurde durch einen Medianschnitt eröffnet, beide Ureteren präpariert und in jeden ein feiner Katheter aus Polyvinylchlorid bis in das Nierenbecken eingeführt. Der Urin wurde aus beiden Kathetern getrennt aufgefangen.

Die Stop flow Analyse wurde durchgeführt, wenn die Urinausscheidung konstant war und etwa der Einfuhr entsprach, frühestens nach 20 min. Es wurden insgesamt 28 Fraktionen mit je 2 Tropfen Urin gesammelt, und zwar vor der Okklusion 2 Fraktionen als "free flow" Proben, 26 nach dem Öffnen des Katheters.

IV. Messung der Elektrolytverteilung zwischen dem intra- und extracellulären Raum der Leber und des Skelettmuskels

Zu diesem Zweck wurden im Serum die Na^+ - K^+ - und Saccharosekonzentration sowie im Gewebe der Wasser-, Saccharose-, Na^+ - und K^+ -Gehalt bestimmt. Die Gewebeproben wurden 6 Stunden nach der Injektion des 6-AN entnommen. Adrenalektomierte Tiere wurden am 2. Tag nach der Operation verwendet.

Der extracelluläre Wassergehalt wurde nach der von DULCE und GÜNTHER (1960) angegebenen Methode als Saccharoseverteilungsvolumen bestimmt. 2 ml einer 14%igen Saccharoselösung wurden in eine Schwanzvene injiziert. Nach 15 min wurden die Tiere dekapitiert und das Blut in silikonisierten und heparinisierten Zentrifugengläsern aufgefangen. Das Plasma wurde abzentrifugiert. Leber und Oberschenkelmuskulatur

wurden präpariert, das anhaftende Blut mit Filtrierpapier abgetupft und noch vorhandenes Bindegewebe entfernt.

Aufarbeitung des Gewebes:

1. Gesamtwassergehalt: Etwa 250 mg Gewebe wurden bei 105°C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.
2. Bestimmung des extracellulären Wassergehalts: Der Saccharosegehalt wurde im Serum und Gewebe nach der von WAHLER (1956) zum Nachweis von Inulin angegebenen Methode bestimmt, die auf einem Fructosenachweis mit Resorcin beruht. Die Blankwerte für Serum und Gewebe wurden von Tieren gewonnen, die keine Saccharose erhalten hatten.

Es wurden 0,2 ml der Eichlösung bzw. 0,2 ml Serum oder etwa 250 mg Gewebe eingesetzt. Die Proben wurden sofort nach der Entnahme in 10 ml Reagenzgläser mit Schliffstopfen, die je 1,5 ml 0,75 n NaOH enthielten, gebracht, die Gläser fest verschlossen und in ein kochendes Wasserbad gestellt.

Eichlösung und Serum wurden mindestens 10 min, das Gewebe bis zur völligen Auflösung erhitzt. Danach wird auf Zimmertemperatur abgekühlt und 2,5 ml 0,28 n ZnSO_4 + 0,25 n HCl zur Neutralisation des Alkaliaufschlusses und gleichzeitigen Eiweißfällung zugesetzt. Nach 30 min wird der Niederschlag abzentrifugiert und der Überstand nochmals zentrifugiert. 2 ml des Überstandes werden in ein Reagenzglas überpipettiert und 4 ml 0,06 m Thioharnstoff + 0,0001 m FeCl_3 in konzentrierter Salzsäure zugegeben. Die Gläser werden mit Stopfen verschlossen und 9 min auf 78°C erhitzt, sofort auf Zimmertemperatur abgekühlt und innerhalb von 30 min bei 515 m μ mit einem Photometer der Firma Beckmann Modell DU kolorimetriert.

Als Eichreihe wurden Ausgangslösungen von 400 mg%, 200 mg%, 100 mg%, 50 mg%, 25 mg% und 0 mg% verwendet. Die Eichreihe ist in diesem Bereich linear.

Berechnung: aus der Eichkurve wurde der Saccharosegehalt abgelesen und auf 1 ml Serum bzw. 1 g Gewebe berechnet.

$$\text{EZR \%} = \frac{\text{Saccharosegeh. (x/g Fg)} - \text{Gewebeblankwert}}{\text{Saccharosegeh. (x/ml Serum)} - \text{Serumblankwert}} \cdot 100$$

3. Elektrolytbestimmung: Etwa 30 mg des getrockneten Gewebes wurden mit 1 ml konzentrierter Salpetersäure im Bombenrohr verascht. Als Bombenrohre verwendeten wir 35 cm lange Jenaer Glasrohre mit einem Durchmesser von 9 mm. Die Rohre wurden am Ende zu einer Kapillare ausgezogen und zugeschmolzen, einzeln in Metallhülsen gesteckt und 2 Stunden auf 200°C erhitzt. Zur Bestimmung der Natriumabgabe aus dem Glas wurden bei jeder Veraschung 2 Leerwerte nur mit Salpetersäure bestimmt. Der Geweberückstand wurde ad 25 ml aufgefüllt, der Na⁺- und K⁺-Gehalt flammenphotometrisch bestimmt. Wir benutzten hierfür eine Reihe von Eichlösungen mit abgestuften Elektrolytkonzentrationen. Die Maximalkonzentration betrug 0,3 µval Natrium bzw. 2,5 µval Kalium/ml. Außerdem enthielten die Lösungen 4 Vol % HNO₃. Der Natriumeichreihe waren 0,4 µval Kalium/ml, der Kaliumeichreihe 1,5 µval Natrium/ml zugesetzt.

Ergebnisse

Entwicklung der Störungen im Elektrolyt- und Wasserhaushalt nach intravenöser Injektion von 50 mg/kg 6-Aminonikotinsäureamid

Nach einer zweistündigen Latenzperiode wird in der dritten Stunde die Natrium- und Wasserausscheidung gesteigert, ohne daß dabei zunächst die Konzentration der Natriumionen im Harn wesentlich erhöht ist. Vier Stunden nach der Injektion ist die Intensität dieser Veränderungen stärker geworden. Zu diesem Zeitpunkt werden $81 \mu\text{val}$ Natrium zusätzlich eliminiert. Die Ausscheidung der Natriumionen übertrifft die Einfuhr um 47%. Das Harnvolumen liegt aber nur um 10% über der Flüssigkeitseinfuhr. Es wird somit mehr Natrium als Wasser eliminiert. Dies zeigt sich auch an einer Erhöhung der Natriumkonzentration im Harn, die mit $53 \mu\text{val/ml}$ 50 % höher als die Natriumkonzentration der Infusionsflüssigkeit ist. In der fünften Stunde erreicht die Störung ihr Maximum. Die mit 6-AN behandelten Tiere scheiden $231 \mu\text{val}$ Natrium mehr aus als die Kontrollen. Dies sind 145 % der eingeführten Natriummenge. Die Flüssigkeitsausfuhr ist nur um 36 % erhöht.

Legt man die absolute Natriumausscheidung im Harn zugrunde, so läßt die renale Funktionsstörung in den folgenden Stunden nach. Das Maximum der Natriumausscheidung wurde in der fünften Stunde mit $417 \mu\text{val/Tier}$ gemessen. Dieser Wert erniedrigt sich in der sechsten und siebenten Stunde auf 382 bzw. $245 \mu\text{val}$. In der achten Stunde wird die Einfuhr nur noch um $23 \mu\text{val}$ Natrium übertroffen.

Die Abnahme der Natriumausscheidung ist in erster Linie auf eine Verringerung der Flüssigkeitsausfuhr zurückzuführen. Die Konzentration der Natriumionen im Urin bleibt weiterhin erhöht. Diese erreicht ihr Maximum eine Stunde später als das Maximum der absoluten Natriumausfuhr. In der sechsten Stunde enthält der Harn $77 \mu\text{val/ml}$. Danach nimmt die Konzentration bis auf einen Wert von $46,5 \mu\text{val/ml}$ in der achten Stunde kontinuierlich ab (Abb.1).

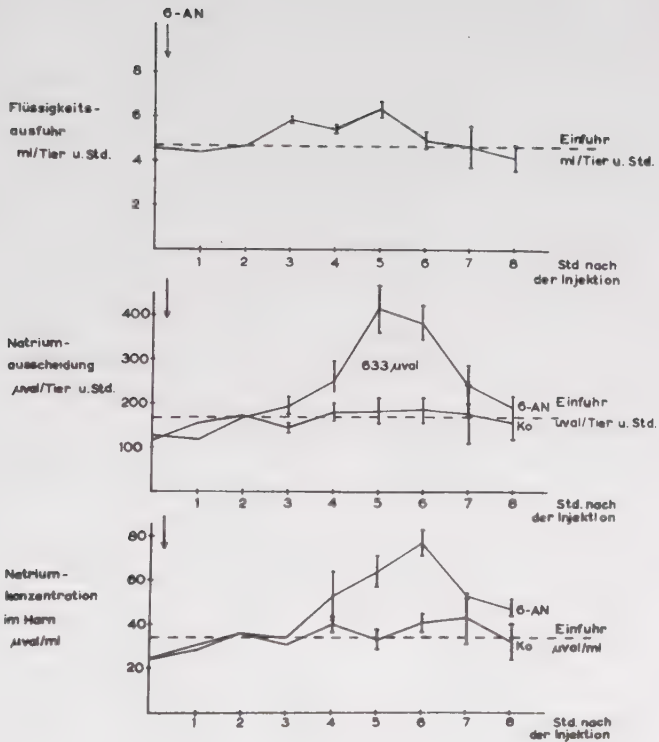


Abb. 1: Entwicklung der Störungen im Elektrolyt- und Wasserhaushalt nach intravenöser Injektion von 50 mg/kg 6-AN
(Infusionsversuch, intravenöse Zufuhr einer 0,2%igen mit Glucose äquilibrierten Kochsalzlösung, Infusionsgeschwindigkeit: 5,0 ml/Tier und Stunde).

Die Veränderungen in der Kaliumausscheidung treten nach einer Latenzperiode von drei Stunden auf. Nach dieser Zeit wurde die Elimination der Kaliumionen herabgesetzt. Die größte Differenz bestand in der fünften Stunde. In diesem Zeitraum lag auch das Maximum der Natriumverluste.

Zwischen der dritten und achten Stunde wurden 32 μ val Kalium retiniert. Dieser Betrag ist im Vergleich zu den Natriumverlusten minimal. Die zusätzliche Natriumausscheidung betrug nämlich 633 μ val. (Abb. 2)

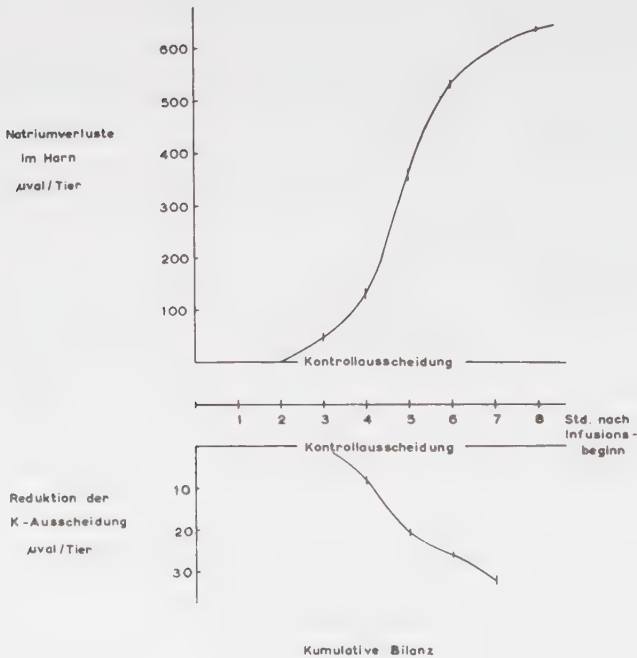
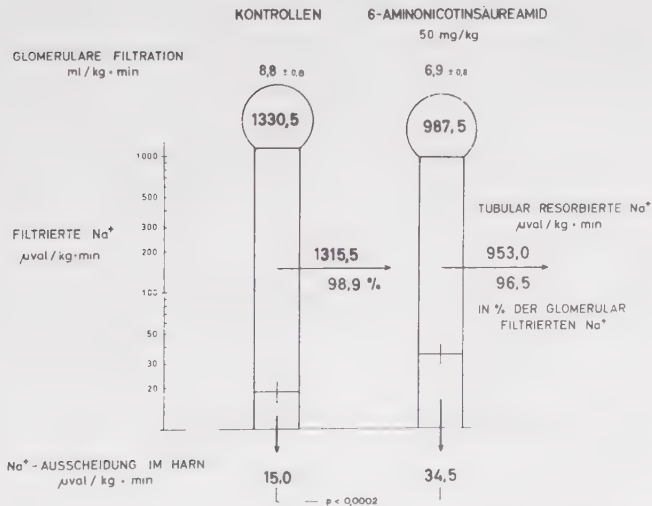


Abb. 2: Natriumverluste und Reduktion der Kaliumausscheidung im Harn nach Zufuhr von 6-AN.

Nachweis tubulärer Störungen nach Einwirkung von 6-AN

Clearanceuntersuchungen zeigten, daß die glomeruläre Filtration der mit 6-AN behandelten Tiere in der sechsten Stunde nach der Injektion von 8,8 auf 6,9 ml/kg und min erniedrigt ist. Die Menge der filtrierten Natriumionen wird von 1330,5 auf 887,5 μ val/kg und min reduziert. Hiervon wurden 96,5 % tubulär resorbiert. Bei den Kontrollen betrug der Prozentsatz der Resorption 98,9%. Während der Clearanceperiode wurden also 2,4% der filtrierten Natriumionen unter dem Einfluß des 6-AN weniger zurückgewonnen. Die Mehrausscheidung an Natrium ist somit auf eine tubuläre Leistungsminderung zurückzuführen. (Abb.3)



ABNAHME DER TUBULÄREN RÜCKGEWINNUNG VON NATRIUMIONEN
NACH INJEKTION VON 50 mg/kg 6-AMINONICOTINSÄUREAMID
(CLEARANCE-PERIODE 6 Std nach Injektion)

Abbildung 3

Lokalisation der tubulären Resorptionsstörung

Mit Hilfe der Stop flow Technik wurde geprüft, in welchem Abschnitt des Nephrons nach Injektion von 6-AN weniger Natriumionen resorbiert wurden. Bei der Auswertung der Versuche haben wir das von PITTS, (1958) angegebene Verfahren benutzt.

Der Quotient U_{Na^+}/P_{Na^+} ist ein Maß für die Resorption von Natriumionen, die zu einer Erniedrigung der Natriumkonzentration im Harn führt. Er berücksichtigt allerdings noch nicht diejenigen Veränderungen des Natriumgehalts, die durch die Rückgewinnung des Wassers hervorgerufen werden. Der Fehler wird vermieden, wenn dieser Quotient zu einem Faktor in Beziehung gesetzt wird, der sich aus dem Quotienten U_I/P_I errechnet und die Größe der Wasserresorption angibt ($U_{Na^+}/P_{Na^+} / U_I/P_I$).

Zur Lokalisation der tubulären Störung wurde die Differenz zwischen den Free flow Werten und den im distalen Resorptionsmaximum errechneten Zahlen gebildet. Dieser Unterschied repräsentiert die Natriummenge, die aus 1 ml Harn durch das distale Tubulusepithel resorbiert wurde. Außerdem haben wir die Differenz zwischen den Free flow Werten und dem Quotienten gebildet, die in den Fraktionen des proximalen Plateaus gemessen wurden.

Die als Maß für die distale Resorption geltenden Verhältniszahlen sind in allen Versuchen bei den mit 6-AN behandelten Tieren kleiner als bei den Kontrollen. Die Leistungsminderung ist nach einer Okklusionsdauer von 60 sec am stärksten (Tab. 1). Die Analyse der proximalen Fraktionen zeigte keine wesentlichen Unterschiede gegenüber den Kontrollwerten. Eine von dem tubulären Wassertransport unabhängige Störung der Natriumrückgewinnung scheint hier nicht zu bestehen.

Die Resultate der Stop flow Untersuchungen mit ihrem Hinweis auf den distalen Angriffspunkt des 6-AN stimmen im Prinzip mit einer bereits erwähnten Beobachtung überein. In den Infusionsexperimenten war nach Injektion des 6-AN eine Steigerung der Natriumkonzentration im Harn

Stop- flow- Periode [sec]	$\frac{U_{Na^+}}{P_{Na^+}} / \frac{U_I}{P_I}$ (free flow) — $\frac{U_{Na^+}}{P_{Na^+}} / \frac{U_I}{P_I}$ (distales Resorptionsmax.)			
	Kontrolle	6-AN		
20	0,093	0,079	Rückgewinnung durch 6-AN	15,1 %
40	0,140	0,088		37,1 %
60	0,126	0,073		42,1 %
	Kontrolle	adrenalekt.	Reduktion der tubulären durch Adrenalektomie	
20	0,093	0,034		63,4 %
40	0,140	0,067		52,2 %
60	0,126	0,074		41,3 %
	nach Adrenalektomie			
	Kontrolle	+Aldoster.	Steigerung der tubul. Rückgew. durch Aldosteron	
20	0,034	0,036		5,9 %
40	0,067	0,071		6,0 %
60	0,074	0,103		39,2 %

Tab.1: Tubuläre Leistungsminderung im distalen Bereich nach Injektion von 6-AN. Gleiche Lokalisation des Adrenalektomie- bzw. Aldosteroneffekts. (5,0 µg Aldosteron/Tier eine Stunde vor Versuchsbeginn intravenös; 0,5 µ/Stunde in der Infusionslösung).

aufgetreten (siehe Seite 12 und Abb. 1). Bei einer proximalen Wirkung müßte man eine Mehrausscheidung von Natrium und Wasser in isotonischen Verhältnissen erwarten, da hier die Rückgewinnung der Natriumionen mit der des Wassers gekoppelt ist.

Die Lokalisation und die Art der beschriebenen Störung (vermehrte Resorption von Natrium bei Reduktion der Kaliumausscheidung) ließen zunächst vermuten, daß 6-AN zu einer Ausschaltung der Aldosteronwirkung führt. Der Angriffspunkt dieses Hormons soll nach den Untersuchungen von VANDER, WILDE und MALVIN (1961) im distalen Bereich der Nephrone liegen. Wir haben deshalb die durch 6-AN hervorgerufenen Veränderungen mit den Auswirkungen einer Adrenalektomie bzw. einer Zufuhr von Aldosteron bei nebennierenlosen Tieren im Stop flow Experiment verglichen. Die Untersuchungen zeigen, daß die bei den adrenalektomierten Tieren gewonnenen Werte kleiner als die bei den Kontrollen gemessenen Quotienten sind. Wie unter der Einwirkung des 6-AN zeigt sich nach Ausfall der Nebennieren eine verminderte Resorption von Natrium in den distalen Tubulusabschnitten. Die tubuläre Leistungsminde- rung kann durch Zufuhr von Aldosteron bei den adrenalektomierten Tieren teilweise beseitigt werden (Tab. 1).

Der Einfluß von 6-AN auf die Natrium- und Kaliumbilanz bei adrenalektomierten Tieren

Infusionsversuche an adrenalektomierten Tieren zeigen jedoch, daß die nach Zufuhr von 6-AN bzw. nach Entfernung der Nebennieren auftretenden Veränderungen nur an dem gleichen Abschnitt des Nephrons zu lokalisieren sind, nicht aber auf einem gleichen Mechanismus beruhen. 6-AN steigert nämlich die Natriumausscheidung auch an adrenalektomierten Tieren. Die Elimination der Kaliumionen wird wie bei den Tieren mit Nebennieren reduziert. Der Effekt des 6-AN kann somit nicht auf eine Ausschaltung der Aldosteronproduktion oder -wirkung zurückgeführt werden (Abb. 4).

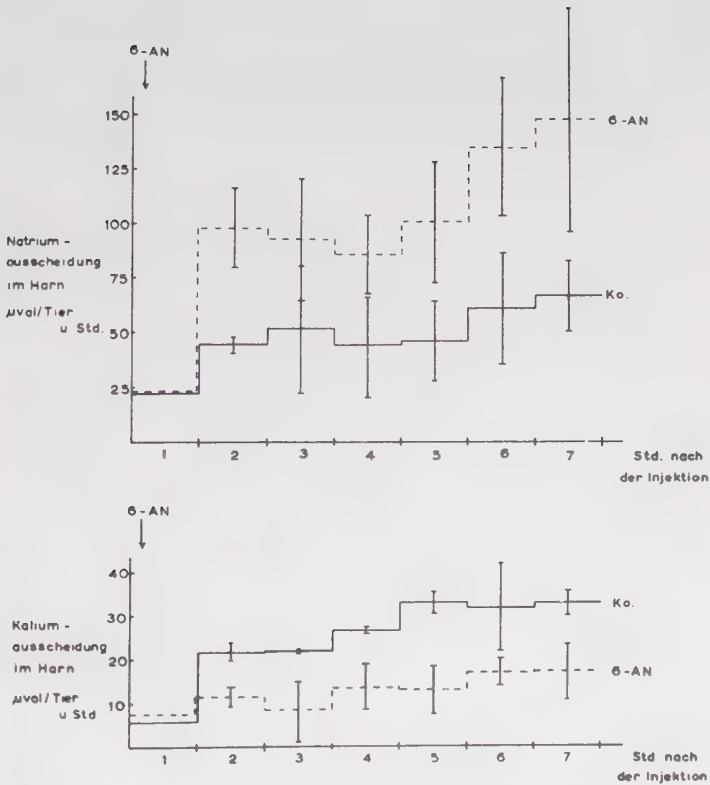


Abb. 4: Steigerung der Natrium- und Reduktion der Kaliumausscheidung bei adrenalectomierten Ratten nach intravenöser Injektion von 25 mg 6-AN/kg.

Die renale Wirkung des Aldosterons nach Zufuhr von 6-AN

Daß die für das Zustandekommen der Aldosteronwirkung erforderlichen tubulären Rezeptoren durch das 6-AN nicht blockiert werden, läßt sich auch mit Hilfe einer anderen Versuchsanordnung beweisen. Die intravenöse Zufuhr von Aldosteron bewirkt bei adrenaletomierten Tieren eine Senkung der Natriumkonzentration und -ausscheidung im Urin. Eine gleiche Wirkung hat das Hormon bei Ratten, die mit 6-AN vorbehandelt wurden. Zwischen der 1. und 6. Stunde wurden 268 μ val Natrium

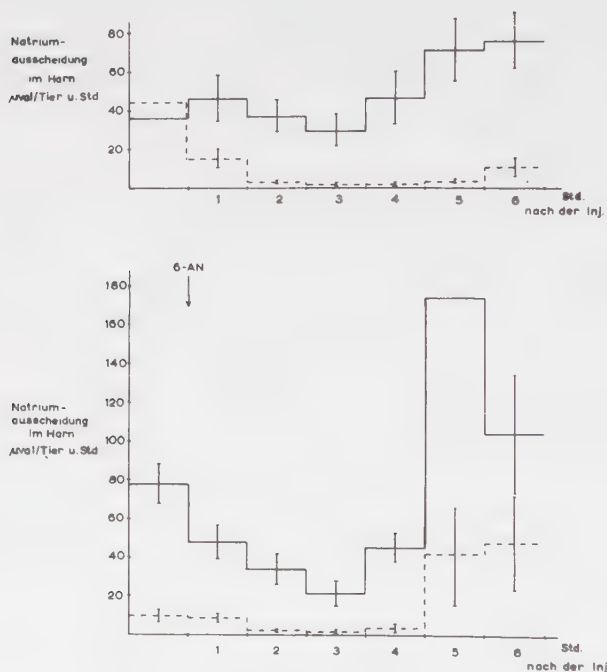


Abb. 5: Natriumretinierender Effekt des Aldosterons
(0,25 μ g/Tier und Stunde)
unten: nach Injektion von 6-AN (50 mg/kg intravenös)

— ohne Aldosteron
- - - - - nach Zufuhr von Aldosteron

im Vergleich zu den adrenaletomierten Kontrollen retiniert. Nach Vorbehandlung mit 6-AN betrug die Retention 320 μ val. Ein Wirkungsverlust des Hormons ist nicht festzustellen (Abb. 5).

Auch der kaliumeliminierende Effekt des Aldosterons blieb erhalten. Seine Intensität war allerdings geringer als bei Tieren, die kein 6-AN zusätzlich erhalten hatten. (Kaliumeliminierende Wirkung des Aldosterons bei adrenaletomierten Tieren ohne Vorbehandlung mit 6-AN: 85 μ val, nach Vorbehandlung mit 6-AN: 37 μ val.) (Abb. 6).

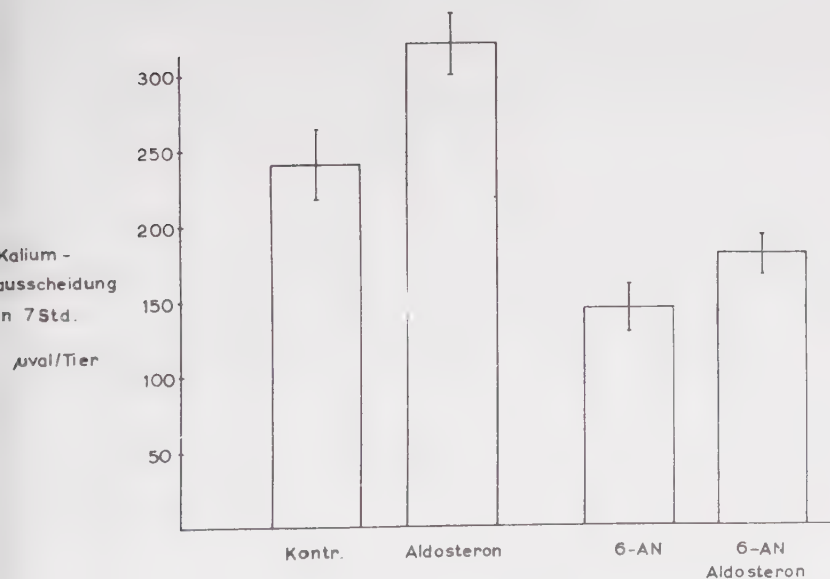


Abb. 6: Kaliumeliminierender Effekt des Aldosterons (0,25 μ g/Tier und Stunde) bei adrenaletomierten Ratten.

Der Einfluß des 6-AN auf die Wirkungen von Diuretica

a) mit proximalem Angriffspunkt (Chlorothiazid)

Durch die Untersuchungen von VANDER, MALVIN, WILDE und SULLI VAN (1959) wurde bekannt, daß Chlorothiazid die tubuläre Rückgewinnung von Natriumionen in den proximalen Abschnitten des Nephrons reduziert. Verschiedene Autoren (KOCZOREK, 1962; ZEH und KRÜCK, 1962) haben behauptet, daß die Wirkungsintensität proximal angreifender Diuretica durch den in seiner Funktion ungestörten distalen Resorptionsmechanismus beeinträchtigt werden kann. Sie stellten die Hypothese auf, daß die in den proximalen Abschnitten an der Resorption behinderten Natriumionen durch die Tätigkeit der anschließenden distalen Tubuli zu einem Teil wieder zurückgewonnen werden. Experimentelle Beweise liegen hierfür aber bisher nicht vor.

Wir haben daher geprüft, ob die Wirkungsintensität des Chlorothiazids bei der durch 6-AN erzeugten distalen Resorptionsstörung gesteigert wird.

Die Versuche zeigen, daß dies tatsächlich der Fall ist. Die intravenöse Injektion von 50 mg/kg Chlorothiazid steigert die Natriumausscheidung während der auf die Injektion folgenden 2 Stunden um 450 μ val. Nach Prämedikation von 6-AN bleibt der Chlorothiazideffekt nicht nur erhalten, sondern wird auf fast das Doppelte gesteigert. Durch das 6-AN wird die Natriumzufuhr in dem angegebenen Zeitabschnitt um 302 μ val gegenüber den Kontrollen erhöht. Chlorothiazid vermehrte die Natriumausscheidung um 881 μ val, so daß im Vergleich zu den unbehandelten Tieren 1183 μ val zusätzlich eliminiert wurden. Die Gesamtausscheidung betrug 1590 μ val. Bei einer Einfuhr von 340 μ val trat eine negative Bilanz von 1250 μ val auf (Abb. 7).

Bei einer glomerulären Filtration von 6,9 ml/kg und min wird die tubuläre Resorption der Natriumionen durch 6-AN + Chlorothiazid um 7,3 % erniedrigt (Tab. 2).

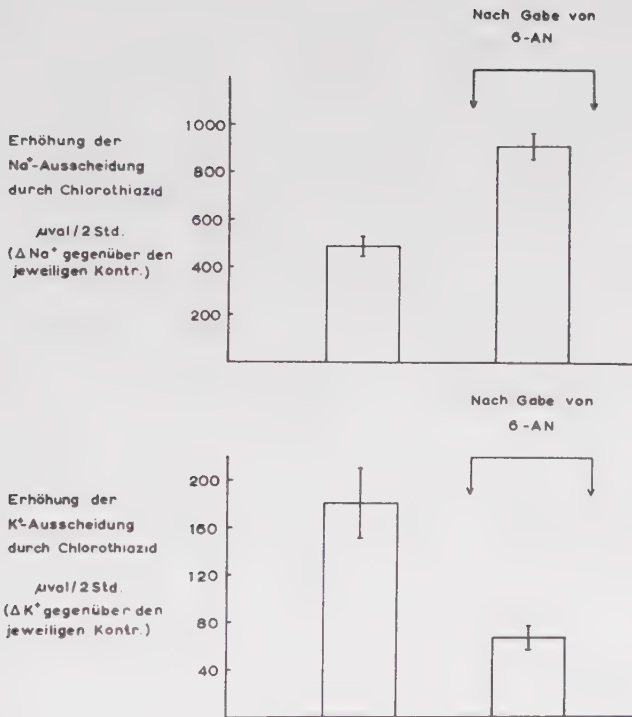


Abb. 7: Verstärkung der natriumeliminierenden Wirkung des Chlorothiazids und Reduktion der Kaliumverluste bei distaler Leistungsminderung. (Chlorothiaziddosis: 50 mg/kg intravenös 3 Stunden nach Injektion von 50 mg/kg 6-AN intravenös appliziert.)

	ohne 6-AN		mit 6-AN	
		nach Gabe von Chloroth.		nach Gabe von Chloroth.
GFR ml/kg und min.	8,8	8,8	6,9	6,9
glomerulär filtr. Na ⁺ μval/kg und min	1330,5	1330,5	987,5	987,5
Tubul. μval/kg und min	1307,9	1282,9	948,1	899,2
re- sorb. in % der Na ⁺ glomerul. filtr.	98,3	96,4	96,0	91,0
Na ⁺ -Ausscheidung im Harn μval/kg u. min	22,6	47,8	39,4	88,3
Reduktion der tub. Resorption (in % der Filtr.) durch Chlorothiazid		1,9		5,0
Reduktion der tub. Resorption (in % der Filtr.) durch Chloroth. + 6-AN	7,3			

Tab. 2: Steigerung der Wirkungsintensität von Chlorothiazid durch Vorbehandlung mit 6-AN.

Der kaliumeliminierende Effekt des Chlorothiazids wird hingegen durch das 6-AN abgeschwächt. Er erniedrigt sich von 182 auf 75 μ val/2 Stunden. Die Reduktion der Kaliumausscheidung ist somit kleiner als die Verstärkung der natriumeliminierenden Wirkung (Abb. 7).

b) mit distalem Angriffspunkt (Triamterene)

Triamterene (2, -4, -7-Triamino-6-phenylpteridin) hat einen ähnlichen renalen Effekt wie das 6-AN. Es steigert die renale Elimination der Natriumionen im Harn bei gleichzeitiger Hemmung der Kaliumausfuhr. Diese Wirkung gleicht auch den Veränderungen, die durch eine Adrenalektomie hervorgerufen werden. WIEBELHAUS, WEINSTOCK, BRENNAN, SOSNOWSKI und LARSEN (1961) haben daher ursprünglich die Ansicht vertreten, daß die renalen Wirkungen des Triamterenes auf einer Hemmung des Aldosterons beruhen und daß das Diureticum in die Gruppe der Antialdosterone vom Typ der Spirolaktone einzuordnen ist. HERKEN und SENFT (1961) stellten jedoch fest, daß der renale Effekt auch bei adrenalektomierten Tieren nachzuweisen ist, unabhängig davon, ob die Tiere mit Aldosteron substituiert werden oder nicht. Stop flow Untersuchungen sprechen für einen distalen Angriffspunkt des Pteridinderivats (SENFT, 1962). Nach den Befunden über die Modifikation der Chlorothiazidwirkung durch 6-AN schien es daher interessant zu prüfen, ob auch die Wirkungen eines distal angreifenden Diureticums durch die in den gleichen Abschnitten lokalisierte experimentelle Störung verändert wird.

Die Untersuchungen führten zu dem überraschenden Ergebnis, daß die nach Gabe von Triamterene auftretende Steigerung der Natriumausscheidung durch die vorherige Zufuhr von 6-AN völlig aufgehoben wird (Abb. 8).

Das Diureticum wirkt auch nicht mehr bei adrenalektomierten Tieren, die zu Beginn des Infusionsversuches 6-AN erhalten hatten.

Interessanterweise bleibt aber der Einfluß des Triamterenes auf die Kaliumausscheidung im Harn erhalten. Die kaliumretinierende Wirkung wird allerdings reduziert, und zwar von 68 μ val auf 43,5 μ val/2 Stunden.

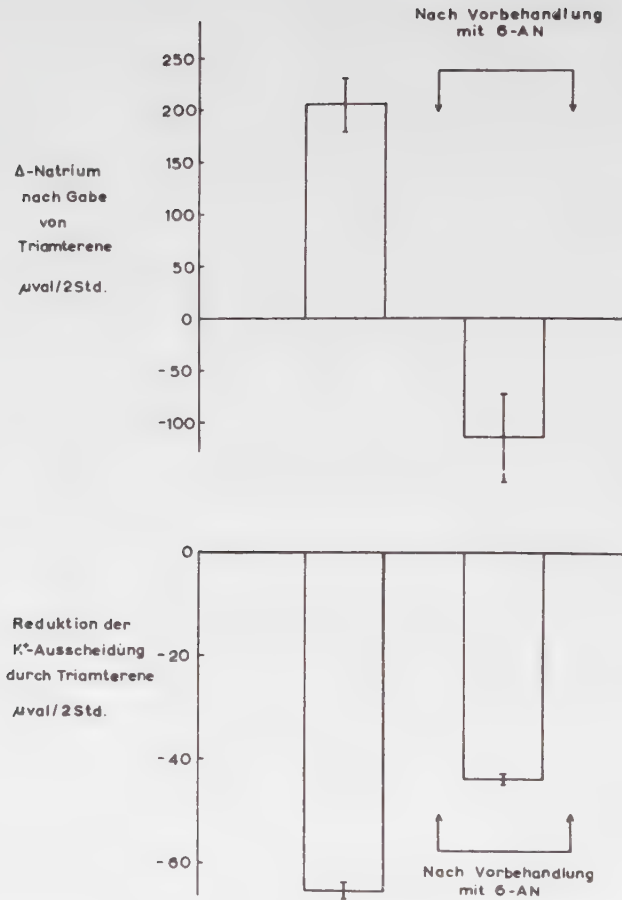


Abb. 8: Wirkungsverlust des Triamterenes durch Vorbehandlung mit 6-AN.
(Triamterene: einmalige orale Applikation von 2 mg/kg 3 Stunden nach der intravenösen Injektion von 50 mg/kg 6-AN).

Der Einfluß von Triamterene auf die durch 6-AN erzeugte Stoffwechselstörung

Der Wirkungsverlust des Triamterenes könnte dafür sprechen, daß die durch beide Substanzen bedingte Hemmung der tubulären Resorption von Natriumionen auf einer im Prinzip gleichartigen Störung biochemischer Reaktionen beruht. Es wäre aber auch möglich, daß zur intrazellulären Anreicherung beider Stoffe derselbe Transportweg benutzt wird, um den die Verbindungen miteinander konkurrieren. Bei dieser Annahme könnte man erwarten, daß auch die Wirkung des 6-AN verändert werden kann, wenn gleichartige biochemische Reaktionen oder gemeinsame Transportwege durch die vorherige Gabe des Triamterenes beeinträchtigt oder blockiert werden.

Zur Prüfung dieser Arbeitshypothese erhielten männliche Ratten von Beginn des Versuches an 2 mg Triamterene / kg und Stunde durch eine im Magen liegende Schlundsonde verabfolgt. Gleichzeitig wurden 50 mg 6-AN/kg intravenös injiziert. In der 5. und 6. Stunde nach Infusionsbeginn steigert 6-AN die Natriumausscheidung um 450 μ val/Tier, wenn die Ratten kein Triamterene erhielten. Bei kontinuierlicher Triamterenezufuhr wurde der 6-AN - Effekt fast völlig aufgehoben. Auch die durch 6-AN bedingte Reduktion der Kaliumausscheidung wurde durch das Triamterene verhindert (Abb. 9).

Die Wirkungsauhebung zeigte sich aber nur bei der Messung der renalen Funktion. Die durch 6-AN bedingten neurologischen Störungen (schlaaffe Lähmung der Extremitäten) blieben erhalten. Eine extrarenale Wirkung des Triamterenes war somit nicht nachweisbar.

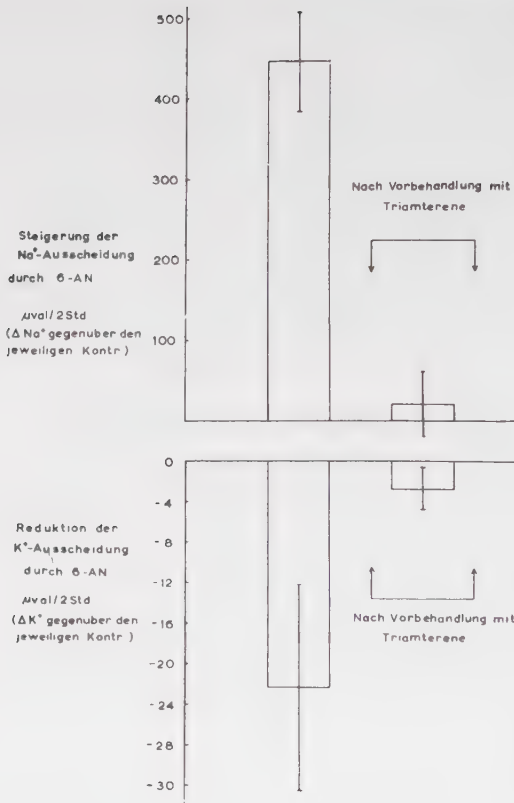


Abb. 9: Aufhebung der renalen 6-AN-Wirkung durch Vorbehandlung mit Triamterene. (2 Stundenbilanz zwischen der 5. und 7. Std. nach Injektion von 50 mg/kg 6-AN intravenös. Triamterene wurde in einer Dosis von 2 mg/kg und Stunde oral verabfolgt.)

Extrarenale Wirkungen des 6-AN

- a) Veränderungen der Elektrolyt- und Wasserverteilung zwischen dem intra- und extracellulären Raum der Leber.

6-AN führt nicht nur in der Niere zur Bildung von NAD- bzw. NADP-Analoga. Eine relativ hohe Konzentration des 6-ANAD wurde in der Leber gefunden (DIETRICH, KAPLAN, FRIEDLAND und MARTIN, 1958). Es wurde daher auch untersucht, ob die Bildung falsch strukturierter NAD- bzw. NADP-Analoga auch in diesem Organ zu einer Störung des Ionentransports führt, die sich an einer Änderung der Ionenverteilung zwischen dem intra- und extracellulären Raum äußert.

6 Stunden nach intraperitonealer Injektion von 6-AN war der Gesamt-wassergehalt sowie der intra- und der extracelluläre Raum nicht verändert. Am Natriumgehalt des Gewebes zeigten sich dagegen deutliche Unterschiede. Auf 100 g Frischgewicht bezogen erhöhte sich der Natriumgehalt von 2400 auf 2770 μval . Die extracelluläre Natriumkonzentration nahm ab. Da der extracelluläre Flüssigkeitsraum unverändert blieb, wurden damit auch die in diesem Flüssigkeitsanteil vorhandenen Natriumionen reduziert. Folglich wurde bei einem erhöhten Gesamtnatriumgehalt des Gewebes der intracelluläre Anteil gesteigert. Er erhöhte sich von 200 auf 580 $\mu\text{val}/100$ g Feuchtgewicht. Die intracelluläre Natriumkonzentration nahm von 3,7 auf 10,5 $\mu\text{val}/\text{ml}$ zu.

Wie in der Niere, so fand sich auch in der Leber nach Injektion des 6-AN eine Beeinträchtigung des Natriumtransports, ohne daß die tubuläre Rückgewinnung des Wassers bzw. die Wasserverteilung dabei verändert ist (Tab. 3).

Die selektive Störung des Natriumtransports zeigte sich besonders deutlich an der Erniedrigung des Natriumkonzentrationsquotienten zwischen dem extra- und intracellulären Raum ($\text{Na}_e^+/\text{Na}_i^+$). Die Reduktion der ex-

	Kontrolle n = 8	nach 6-AN n = 9
Gesamtwassergehalt ml/100 g Fg	71,3 ± 0,59	71,5 ± 0,27
extrac. Wassergehalt ml/100 g Fg	16,8 ± 0,62	17,5 ± 0,61
intrac. Wassergehalt ml/100 g Fg	54,5 ± 0,79	54,0 ± 0,68
Gesamt-Na ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	2422 ± 101,8	2769 ± 104,7
	p < 0,05	
extrac. Na ⁺ -Konzentr. μval/ml	138,9 ± 1,02	123,5 ± 0,81
	p < 0,001	
extrac. Na ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	2339 ± 90,8	2185 ± 114,7
intrac. Na ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	200 ± 73,9	582 ± 88,7
intrac. Na ⁺ -Konzentr. μval/ml	3,7 ± 1,34	10,5 ± 1,53
	p = 0,05	
Gesamt-K ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	10780 ± 328,5	10688 ± 134,3
extrac. K ⁺ -Konzentr. μval/ml	5,7 ± 0,22	4,9 ± 0,01
	p < 0,01	
extrac. K ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	96 ± 5,4	84 ± 4,5
intrac. K ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	10559 ± 410,2	10604 ± 137,0
intrac. K ⁺ -Konzentr. μval/ml	193,2 ± 6,6	193,6 ± 2,1

Tab. 3: Zunahme der intracellulären Natriumkonzentration in der Leber nach Zufuhr von 6-AN.

tracellulären sowie der Anstieg der intracellulären Natriumkonzentration bewirkten eine Abnahme von 37,5 auf 11,8. Die Kaliumverteilung wurde dagegen nicht meßbar verändert. Lediglich die extracelluläre Kaliumkonzentration wurde signifikant gesenkt, während sie in der Zelle konstant blieb. Der Kaliumkonzentrationsquotient (K_i^+ / K_e^+) stieg von 33,9 auf 39,5. Der Kaliumtransport wird somit, wenn überhaupt, nur in sehr geringem Maße beeinflußt. Bei der tubulären Störung überwog ebenfalls die Beeinträchtigung des Natriumtransports.

b) Veränderungen der Elektrolyt- und Wasserverteilung zwischen dem intra- und extracellulären Raum der Skelettmuskulatur.

a) bei Tieren mit Nebennieren

In der Leber und in der Niere geht die Bildung von NAD- und NADP-Analoga mit einer Störung des Ionentransports einher. In der Skelettmuskulatur werden im Vergleich zu den beiden anderen Organen nur sehr geringe Mengen an falsch strukturierten Analoga gefunden (DIETRICH, KAPLAN, FRIEDLAND und MARTIN, 1958). Folglich müßten in diesem Gewebe keine oder nur sehr geringe Änderungen des Ionentransports auftreten. Zur Prüfung dieser Annahme haben wir die intra- und extracellulären Elektrolytkonzentrationen in diesem Gewebe bestimmt (Tab.4).

Die Untersuchungen führten zu dem überraschenden Ergebnis, daß die Elektrolytverteilung auch in diesem Gewebe unter dem Einfluß des 6-AN verändert wird, allerdings in völlig anderer Weise als in der Niere und in der Leber. Zum anderen sind die Störungen im Gegensatz zu den in der Niere auftretenden von der Anwesenheit der Nebenniere abhängig. Außerdem wird in der Skelettmuskulatur die Verteilung des Wassers zwischen dem intra- und extracellulären Raum beeinflußt.

Im einzelnen treten folgende Veränderung auf (Tab.4). Bei konstantem Gesamtwassergehalt wurde der extracelluläre Anteil von 11,7 auf 14,6 ml/100 g Frischgewicht erhöht. Der intracelluläre Wasseranteil erniedrigte

	mit Nebennieren		ohne Nebennieren	
	Kontrolle n=9	nach 6-AN n=9	Kontrolle n=6	nach 6-AN n=6
Gesamtwassergehalt ml/100 g Fg	76,7 ± 0,28	76,2 ± 0,25	76,9 ± 0,13	76,7 ± 0,23
extrac. Wassergehalt ml/100 g Fg	11,7 ± 0,75	14,6 ± 0,99	10,9 ± 0,56	11,4 ± 0,47
intrac. Wassergehalt ml/100 g Fg	65,0 ± 0,81	61,5 ± 1,00	66,0 ± 0,60	65,3 ± 0,30
	p < 0,05			
Gesamt-Na ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	1982 ± 92,0	1729 ± 100,9	1702 ± 759	1784 ± 54,7
extrac. Na ⁺ -Konzentr. μval/ml	135,2 ± 1,30	122,9 ± 0,59	124,4 ± 2,74	118,0 ± 1,12
	p < 0,01		p = 0,05	
extrac. Na ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	1578 ± 106,0	1885 ± 107,3	1361 ± 86,6	1347 ± 57,6
intrac. Na ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	404 ± 98,7	143 ± 101,3	341 ± 125,4	437 ± 103,7
intrac. Na ⁺ -Konzentr. μval/ml	6,1 ± 1,41	2,2 ± 1,53	5,1 ± 1,80	6,7 ± 1,55
	p < 0,05			
Gesamt-K ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	11805 ± 174	12312 ± 298	11529 ± 216	11615 ± 317
	p < 0,05			
extrac. K ⁺ -Konzentr. μval/ml	5,3 ± 0,15	5,3 ± 0,13	6,6 ± 0,20	6,0 ± 0,19
extrac. K ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	62 ± 4,2	77 ± 6,5	71 ± 3,4	69 ± 4,6
intrac. K ⁺ -Gehalt μval/ml	11793 ± 258,7	12234 ± 295,7	11458 ± 301,3	11547 ± 318,1
intrac. K ⁺ -Konzentr. μval/ml	181,4 ± 3,6	202,2 ± 7,3	177,9 ± 5,5	177,0 ± 2,2
	p < 0,02			

Tab. 4: "Aktivierung" des Natrium- und Kaliumtransports in der Skelettmuskulatur durch 6-AN bei Ratten mit Nebennieren.

sich von 65 auf 61,5 ml/100 g Frischgewicht. Am deutlichsten waren die Veränderungen bei der Verteilung der Kaliumionen. Der Gesamtkaliumgehalt des Gewebes stieg von 11500 auf 12300 $\mu\text{val}/100$ g Frischgewicht an. Der intracelluläre Kaliumgehalt wurde ebenfalls vermehrt. Die intracelluläre Kaliumkonzentration erhöhte sich von 181 μval auf 202 $\mu\text{val}/\text{ml}$. Damit stieg auch der Konzentrationsquotient zwischen dem intra- und extracellulären Raum (K_i^+/K_e^+).

Die Zunahme der intracellulären Kaliumkonzentration kann aber keinesfalls allein auf einer Konzentrierung beruhen, die durch die Abnahme des intracellulären Lösungsraumes bedingt ist. Der intracelluläre Wassergehalt wurde nur um 6% auf Kosten des extracellulären Wasseranteils verringert. Die intracelluläre Kaliumkonzentration stieg hingegen um 11%.

Daß es sich bei den Veränderungen der Elektrolytkonzentration nicht um die Folgen von Wasserverschiebungen handelt, kann man auch an dem Einfluß des 6-AN auf die Verteilung der Natriumionen erkennen. Der gesamte und der intracelluläre Natriumgehalt des Gewebes wurden reduziert. Die intracelluläre Natriumkonzentration fiel ab. Der Natriumkonzentrationsquotient ($\text{Na}_e^+/\text{Na}_i^+$) stieg von 22,2 auf 55,9 an. Diese Veränderungen sprechen für eine Aktivierung des Ionentransports, da auch der Kaliumkonzentrationsquotient (K_i^+/K_e^+) erhöht ist.

b) bei adrenaletomierten Tieren

Die Untersuchungen von DULCE und GÜNTHER (1960) sowie von SENFT und LOSERT (1963) haben gezeigt, daß das Nebennierenrindenhormon Aldosteron die Natrium- und Kaliumkonzentrationsquotienten ($\text{Na}_e^+/\text{Na}_i^+$; K_i^+/K_e^+) in der Skelettmuskulatur erhöht. Gleichartige Veränderungen wurden von uns unter dem Einfluß des 6-AN beobachtet. Es wäre daher möglich, daß die nach Zufuhr von 6-AN in der Skelettmuskulatur auftretenden Veränderungen auf einer vermehrten Inkretion von Aldosteron beruhen. Es könnte sich auch um die Folgen der Lähmung der Skelett-

muskulatur handeln, die jedoch nur in Gegenwart von Nebennierenrindenhormonen in Erscheinung treten.

Unsere Untersuchungen sprechen für die Richtigkeit dieser Annahmen (Tab. 4). Bei adrenaletomierten Tieren wird nämlich die intracelluläre Kaliumkonzentration unter dem Einfluß des 6-AN nicht gesteigert. Die intracelluläre Natriumkonzentration bleibt ebenfalls unverändert. Infolge der Abnahme der extracellulären Natriumkonzentration wird der Natriumkonzentrationsquotient ($\text{Na}_e^+ / \text{Na}_i^+$) unter diesen Versuchsbedingungen sogar reduziert.

Störungen der renalen Natriumausscheidung nach Einwirkung von 3-AP

Durch die Untersuchungen von KAPLAN, GOLDIN, HUMPHREYS, CIOTTI und VENDITTI (1954), BRUNNEMANN, COPER und HERKEN (1962) sowie COPER und HERKEN (1963) wurde bewiesen, daß 3-AP zur Bildung abnorm strukturierter NAD- bzw. NADP-Analoga führt. Der Austausch des 3-AP gegen Nikotinsäureamid erreicht die höchsten Werte im Zentralnervensystem, wobei hier wiederum der Hippocampus bevorzugt wird (NEUHOFF, WILLING und HERKEN). Untersuchungen über das Auftreten von 3-APAD bzw. 3-APADP in der Niere sind uns nicht bekannt. Ihre Bildung ist aber zu erwarten, da wir nach Applikation von 3-AP ähnliche Störungen gefunden haben wie nach Zufuhr des 6-AN. Voraussetzung hierfür ist allerdings, daß die beiden experimentell erzeugten Funktionsstörungen auf dem gleichen Mechanismus beruhen.

Die intravenöse Injektion von 100 mg 3-AP/kg führte nach einer vierstündigen Latenzzeit zu einer Steigerung der Natriumkonzentration und -ausscheidung im Urin. Zwischen der 5. und 7. Stunde des Infusionsversuches wurden 480 μ val Natrium zusätzlich eliminiert. Clearanceuntersuchungen zeigten, daß die tubuläre Rückgewinnung der Natrium-

ionen reduziert ist. Im späteren Verlauf des Versuches sinkt die glomeruläre Filtration kontinuierlich ab. Die Natriumverluste im Harn werden auf diese Weise verringert. Die Elimination der Kaliumionen wurde durch 3-AP nicht signifikant beeinflusst (Abb. 10).

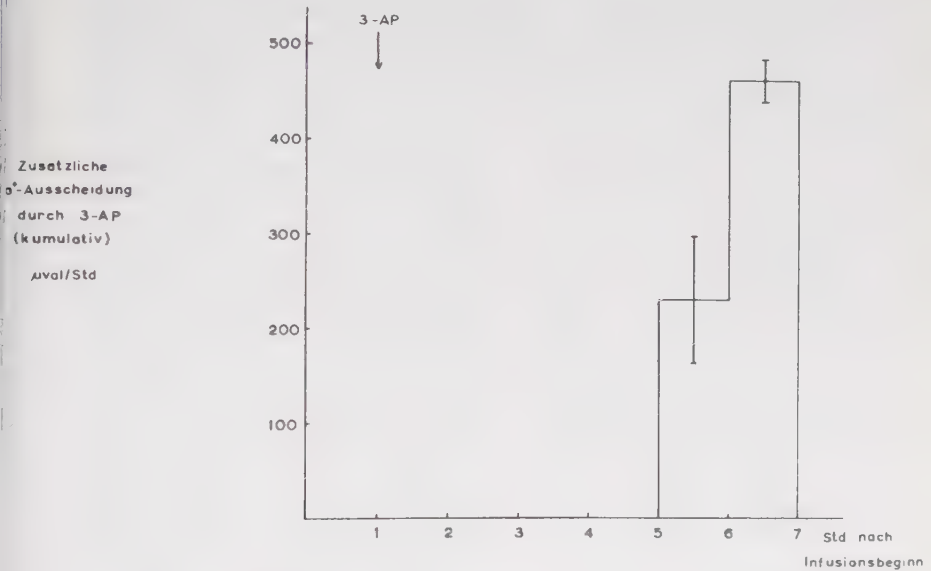


Abb. 10: Steigerung der renalen Natriumausscheidung nach intraperitonealer Injektion von 100 mg 3 AP/kg. Infusionslösung: 0,2%ige mit Glucoselösung äquilibrierte Kochsalzlösung. Infusionsgeschwindigkeit: 5,0 ml/Std. und Tier.

Der Einfluß von 3-AP auf die Elektrolyt- und Wasserverteilung in der Leber

Eine weitgehende Übereinstimmung zwischen den Wirkungen des 6-AN und 3-AP ließ sich auch bei der Prüfung der Elektrolyt- und Wasserverteilung in der Leber feststellen. Wie nach Zufuhr des 6-AN steigt auch nach Applikation des 3-AP der Gesamtnatriumgehalt der Leber an. Der intracelluläre Natriumgehalt wurde von 200 auf 361 µval/100 g Feucht-

	Kontrolle n = 6	nach 3-AP n = 6
Gesamtwassergehalt ml/100 g Fg	71,3 ± 0,59	71,1 ± 0,37
extrac. Wassergehalt ml/100 g Fg	16,8 ± 0,62	17,8 ± 0,95
intrac. Wassergehalt ml/100 g Fg	54,5 ± 0,79	53,3 ± 0,96
Gesamt-Na ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	2422 ± 101,8	2867 ± 80,0
p < 0,01		
extrac. Na ⁺ -Konzentr. μval/ml	138,9 ± 1,02	137,2 ± 0,45
extrac. Na ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	2339 ± 90,8	2445 ± 133,5
intrac. Na ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	200 ± 73,9	361 ± 112,2
intrac. Na ⁺ -Konzentr. μval/ml	3,7 ± 1,34	6,7 ± 2,08
Gesamt-K ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	10780 ± 328,5	10637 ± 164,6
extrac. K ⁺ -Konzentr. μval/ml	5,7 ± 0,22	5,0 ± 0,008
p < 0,01		
extrac. K ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	96 ± 5,43	90 ± 5,45
intrac. K ⁺ -Gehalt μval/100 g Fg	10684 ± 35,0	10547 ± 164,1
intrac. K ⁺ -Konzentr. μval/ml	195,6 ± 5,10	198,3 ± 5,39

Tab. 5: Zunahme der intracellulären Natriumkonzentration
in der Leber nach Zufuhr von 3-AP.

gewicht, die intracelluläre Natriumkonzentration von 3,7 auf 6,7 $\mu\text{val/ml}$ Intracellulärflüssigkeit erhöht. Diese Veränderungen sowie die Abnahme der extracellulären Natriumkonzentration bewirkten, daß der Natriumkonzentrationsquotient ($\text{Na}_e^+ / \text{Na}_i^+$) von 37,5 auf 20,5 erniedrigt wurde. Auch die Kaliumkonzentrationsquotienten ($\text{K}_i^+ / \text{K}_e^+$) wurden herabgesetzt. Jedoch ist dieser Effekt auf die Reduktion der extracellulären Kaliumkonzentration zurückzuführen (Tab. 5).

Diskussion

Zufuhr von 6-AN bewirkt eine Störung des tubulären Natriumtransports. Interessanterweise wird die tubuläre Rückgewinnung von Natriumionen dabei nur in einem relativ eng begrenzten Bezirk, nämlich im Bereich der distalen Tubulusepithelien reduziert. Die Einbeziehung der Sammelrohre ist wahrscheinlich, jedoch lassen die verwendeten Methoden eine genaue Differenzierung nicht zu.

Auf die Lokalisation der tubulären Leistungsminderung kann aus drei verschiedenen Versuchsergebnissen geschlossen werden.

In den Infusionsversuchen beobachteten wir eine vermehrte Elimination von Natriumionen im Urin, ohne daß dabei die Flüssigkeitsausscheidung in nennenswertem Maße gesteigert wurde. Die Konzentration der Natriumionen im Harn war somit erhöht. Dies spricht für einen Eingriff in die tubuläre Rückgewinnung von Natriumionen, die unabhängig von der des Wassers vollzogen wird. Eine derartige Leistung wird in den distalen Abschnitten angenommen (VANDER, WILDE und MALVIN, 1961). Eine proximal gelegene Störung müßte sich in einer Behinderung der Rückgewinnung von Natriumionen in isotonischen Verhältnissen äußern, es sei denn, die Bildung von 6-ANAD bzw. 6-ANADP würde zu einer Dissoziation der in den proximalen Abschnitten normalerweise gekoppelten Rückgewinnung von Natrium und Wasser führen. Hierfür besteht jedoch kein Anhalt.

Eine isotonische Resorption wird auf jeden Fall in der pars convoluta des proximalen Tubulus angenommen, da die Tubulusflüssigkeit in diesem Abschnitt stets isoton im Vergleich zum Plasma gefunden wurde (ULLRICH, 1959). Die pars recta ist teilweise in das Gegenstromsystem des Nierenmarks einbezogen. ULLRICH hält es deshalb nicht für wahrscheinlich, daß die Resorption dort iso-osmotisch ist. Der Ausschluß eines proximalen Angriffspunktes des 6-AN kann sich daher nur auf die pars convoluta, d.h. die ersten 60% des proximalen Tubulus beziehen. Die distale Lokalisation des 6-AN-Effekts könnte die pars recta mit einbeziehen.

Auch die Befunde über eine Verstärkung der Chlorothiazidwirkung durch Vorbehandlung der Tiere mit 6-AN lassen sich durch eine distal lokalisierte Leistungsminderung erklären. Chlorothiazid soll die tubuläre Rückgewinnung von Natriumionen überwiegend in den proximalen Abschnitten des Nephrons reduzieren (VANDER, MALVIN, WILDE und SULLIVAN, 1959; KESSLER, HIERHOLZER, GURD und PITTS, 1959). Es ist möglich, daß die Wirkungsintensität des Diureticums durch die Aktivität der anschließenden distalen Abschnitte zu einem Teil vermindert wird (KOCZOREK, 1962; ZEH und KRÜCK, 1962). Eine Abnahme der distalen Resorptionskapazität, wie sie in unseren Experimenten durch 6-AN erreicht wurde, müßte dann diesen "Abfangeffekt" verkleinern. Da die Wirkungsverstärkung auftritt, weist auch dieser Befund auf eine distale Lokalisation der experimentellen Schädigung hin.

Schließlich konnte der Ort der Störung im Stop flow Experiment bestimmt werden. In den distalen Abschnitten lag das Konzentrationsminimum nach Gabe von 6-AN höher als bei den Kontrollen. Gegenüber dem proximalen Plateau fanden sich dagegen keine Unterschiede.

Der distale Angriffspunkt des 6-AN führt aber offensichtlich nicht zu einer generellen Herabsetzung der tubulären Rückgewinnung in diesem Gebiet.

Daß es sich nicht um einen unspezifischen Eingriff in einen Ionentransportvorgang handelt, wird durch Untersuchungen gestützt, in denen die volle Wirksamkeit des Aldosterons bei dieser experimentellen Störung festgestellt wurde. Der tubuläre Effekt des Aldosterons, der im Stop flow Experiment an gleicher Stelle wie der des 6-AN lokalisiert wurde (VANDER, WILDE und MALVIN, 1961), beruht somit auf einem anderen Mechanismus. Die Wirksamkeit des Aldosterons bei der durch 6-AN bedingten Störung beweist außerdem, daß die Abnahme der tubulären Rückgewinnung nicht auf einer Blockierung der Aldosteronwirkung beruhen kann.

Die Reduktion des tubulären Natriumtransports kann auch nicht die Folge einer verminderten Produktion von Mineralocorticoiden sein, da 6-AN auch bei adrenaletomierten Tieren gleiche Wirkungen hervorruft. Eine Reduktion der Kaliumausscheidung tritt auch unter diesen experimentellen Bedingungen auf.

Sehr wahrscheinlich handelt es sich bei der tubulären Störung um die Auswirkung der Bildung von NAD- bzw. NADP-Analoga. Am Zustandekommen der Wirkung ist die mangelnde Spezifität einer Nucleosidase beteiligt, deren Tätigkeit in einer Hydrolyse des NAD- bzw. NADP-Moleküls mit anschließendem Austausch des Nikotinsäureamids gegen das 6-AN führt (KAPLAN und CIOTTI, 1954 und 1956; DIETRICH, FRIEDLAND und KAPLAN, 1958; BRUNNEMANN, COPER und HERKEN, 1962; COPER und HERKEN, 1963). DIETRICH, FRIEDLAND und KAPLAN (1958) sowie JOHNSON und McCOLL (1956) isolierten das NAD-Analogon aus Organen mit 6-AN behandelte Tiere. Sie fanden, daß 15% der gesamten NAD-Konzentration der Niere in das 6-AN-Analogon übergeführt wurden. In der Leber wurden 10%, im Skelettmuskel nur etwas mehr als 2 % der gesamten NAD-Konzentration zu 6-ANAD umgewandelt. Nach den Ergebnissen von BRUNNEMANN, COPER und NEUBERT sind 16 Stunden nach Injektion von 6-AN 15 - 20% der NAD-Konzentration des Gehirns in ein 6-AN enthaltendes Derivat umgewandelt. NEUHOFF stellte fest, daß 10% des gesamten NAD und über 50% des NADP in der Niere als 6-AN-Analoga vorliegen.

Bei der Prüfung der Folgen einer 6-ANAD-Bildung wurde festgestellt, daß das Analogon weder mit Alkoholdehydrogenase aus Hefe oder Pferdeleber noch mit Malatdehydrogenase aus Schweineherz zu reduzieren war (COPER und HERKEN, 1963). Gleichartige Resultate wurden von DIETRICH, FRIEDLAND und KAPLAN (1958) mitgeteilt, die das 6-AN-Analogon auch mit chemischen Mitteln nicht hydrieren konnten. Die Umwandlung des NAD in das 6-ANAD schaltet diesen Anteil aus dem Wasserstofftransport der Zelle quantitativ aus.

JOHNSON und McCOLL (1955) fanden, daß 6-ANAD-enthaltende Leberhomogenate einen auf 30% erniedrigten O_2 -Verbrauch haben, DIETRICH, KAPLAN, FRIEDLAND und MARTIN (1958) stellten in Tumorgewebe eine verminderte Aktivität verschiedener NAD-abhängiger Enzymsysteme fest.

Diese Resultate sprechen dafür, daß die von uns gefundene Störung des tubulären Ionentransports eine Folge der Bildung von NAD-Analoga ist. Schwierigkeiten bereitet lediglich die Beantwortung der Frage, in welcher Weise, die durch die Bildung von NAD-Analoga bedingte Stoffwechselstörung mit der Reduktion des Ionentransports verknüpft ist.

Am Ionentransport sind sowohl passive wie aktive Mechanismen beteiligt; beide benötigen Energie aus dem Stoffwechsel. Die Permeabilität der Zellmembran hängt von der Unversehrtheit der Zellstruktur ab. Für den aktiven Transport ist neben anderen Kriterien wie Richtung, Spezifität des transportierten Stoffes und bestimmte kinetische Eigenschaften der Verbrauch von chemischer Energie kennzeichnend. HEINZ (1963) nimmt aktiven Transport an, "wenn chemische Stoffwechselenergie in Arbeit gegen das chemische Potentialgefälle umgewandelt wird, d.h. wenn bei der Bewegung eines Teilchens durch eine Membran Kräfte wirksam sind, die sich von der Energie einer in der Transportregion ablaufenden chemischen Reaktion ableiten." Die Abhängigkeit von energieliefernden Prozessen ist leicht nachzuweisen durch ihre Hemmung in der Kälte, bei O_2 -Mangel oder nach Gabe von Stoffwechselgiften.

Die Kopplung einer chemischen Reaktion, die räumlich nicht geordnet ist, mit einem gerichteten Transport ist nicht ohne weiteres möglich. Verschiedene Hypothesen über die Energieübertragung mit Hilfe eines Carriersystems wurden aufgestellt. Die bis jetzt vorliegenden Experimente lassen eine Beteiligung energiereicher Phosphate am wahrscheinlichsten erscheinen. Hierfür sprechen auch die Befunde, daß Hemmung der oxydativen Phosphorylierung mit 2,4-Dinitrophenol den aktiven Transport von Natriumionen reduziert (GÜNTHER, DULCE und SCHÜTTE, 1960; MUDGE, 1953; unveröffentlichte Befunde aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin), und Zufuhr von ATP und anderer energiereicher Phosphate zu vergifteten Zellen zur Restitution führt (HOFFMANN, 1961; KEYNES, 1960).

Energereiches Phosphat in Form von ATP wird durch die oxydative Phosphorylierung und die Glykolyse gebildet. In beiden Fällen sind NAD- bzw. NADP-abhängige Reaktionen damit verknüpft (GRIFFITH, 1962). An dieser Stelle könnte der Antimetabolit den aktiven Transport

beeinflussen, wenn nämlich die Bereitstellung von Stoffwechselenergie durch die Bildung unwirksamer Coenzyme zum limitierenden Schritt würde.

Ein ähnlicher Angriffspunkt könnte auch für das Triamterene diskutiert werden, dessen tubuläre Wirkungen durch Vorbehandlung mit 6-AN aufgehoben werden. Es muß sich dabei nicht um die Bildung von NAD- oder NADP-Analoga des Triamterenes oder eines seiner Stoffwechselprodukte handeln. Wahrscheinlicher ist die Annahme, daß das Pteridinderivat Reaktionen eines Stoffwechselweges beeinflußt, die auch nach Gabe von 6-AN durch Bildung von 6-ANAD oder 6-ANADP in ihrer Leistung reduziert werden. Auf diese Weise würde es verständlich, daß sich die beiden Verbindungen an der Niere antagonistisch verhalten und auch die Wirkung des 6-AN durch Zufuhr von Triamterene aufgehoben werden kann.

Daneben läßt sich noch eine zweite Hypothese für die gegenseitige Aufhebung der renalen Wirkungen des Triamterenes und des 6-AN aufstellen. Orientierende Untersuchungen haben ergeben, daß Triamterene nicht nur glomerulär filtriert, sondern auch tubulär sezerniert wird.

Ein ähnlicher Ausscheidungsmechanismus wurde für das N'-Methylnikotinamid festgestellt (SPERBER, 1948). Es ist sehr wohl möglich, daß auch freies 6-AN über diesen Weg in den tubulären Harn gelangt.

Verschiedene Untersucher (SPERBER, 1948 und 1954; FARAH, FRAZER und PORTER, 1959) haben gezeigt, daß verschiedene Basen um einen gemeinsamen renalen Transportmechanismus konkurrieren und sich je nach der Affinität zum Transportsystem kompetitiv hemmen. Eine derartige Sekretionseinschränkung könnte auch für die Wirkungsauflösung des 6-AN und des Triamterenes und vice versa verantwortlich sein.

Da die tubuläre Sekretion von Säuren bzw. Basen in den proximalen Abschnitten lokalisiert wurde (SPERBER, 1954; BRAUN, 1962), ihre Wirkung aber in den distalen Partien auftritt, müßten sie in diesem Abschnitt durch Rückdiffusion aus dem tubulären Harn in die Zellen gelangen. Bei

Hemmung der tubulären Sekretion könnte der Konzentrationsgradient zwischen dem Primärharn und den Tubuluszellen so flach werden, daß die zur Erzielung einer Wirkung erforderlichen intracellulären Konzentrationen nicht mehr auftreten.

Zur Prüfung dieser beiden Hypothesen müssen natürlich noch Versuche durchgeführt werden.

Die Wirkungen des 6-AN auf die Elektrolytverteilung in der Leber sind im Prinzip die gleichen wie wir sie an der Niere gefunden haben. Die Zunahme des intracellulären Natriumgehalts und der intracellulären Natriumkonzentration sprechen für eine Abnahme des aktiven Natriumtransports. Die Störung im Kaliumtransport ist im Verhältnis dazu minimal.

Auch andere Stoffwechselgifte wie z.B. das 2,4-Dinitrophenol bewirken eine Abnahme der Natriumkonzentrationsquotienten (GÜNTHER, DULCE und SCHÜTTE, 1960). Die als Folge der Entkopplung von Atmung und oxydativer Phosphorylierung auftretende Schädigung unterscheidet sich aber von der nach 6-AN beobachteten. 2,4-Dinitrophenol bewirkt nämlich zusätzlich eine erhebliche Reduktion des aktiven Kaliumtransports, wobei mehr Kalium aus dem intracellulären Raum verloren geht als Natriumionen in die Zelle gelangen. Die Autoren halten es für möglich, daß 2,4-Dinitrophenol primär den aktiven Kaliumtransport hemmt und die Natriumionen sich nur sekundär in der Zelle anreichern, um den Kationenverlust elektrostatisch auszugleichen.

Ein weiterer Unterschied zum 2,4-Dinitrophenol zeigt sich übrigens auch bei der Messung der renalen Wirkung. Die tubuläre Resorption der Natriumionen wird nach eigenen Untersuchungen nur um 0,3% reduziert. Nach Gabe von 6-AN werden Werte über 2% gefunden.

Der Einfluß des 6-AN auf die Elektrolytverteilung in der Skelettmuskulatur unterscheidet sich in seinem Mechanismus und hinsichtlich der

Richtung der beobachteten Veränderung von den in der Leber und in der Niere gefundenen Störungen.

Es kommt hier zu einer Störung, die sich als Aktivierung des Natrium- und Kaliumtransports beschreiben läßt und nur bei Anwesenheit der Nebennieren auftritt. Ein anderer Mechanismus ist auch deswegen wahrscheinlich, weil 6-AN in der Skelettmuskulatur nur zur Bildung sehr geringer Mengen von NAD-Analoga führt (DIETRICH, KAPLAN, FRIEDLAND und MARTIN, 1958). Es könnte sich vielmehr um die Folgen der Lähmung der Skelettmuskulatur handeln, die sich jedoch nur bei Anwesenheit von Nebennierenrindenhormonen in einer erhöhten intracellulären Kaliumkonzentration bei Reduktion des Natriumgehalts äußern. Andererseits wäre zu erwägen, ob die Änderung der Elektrolytverteilung in der Skelettmuskulatur nicht auf einer gesteigerten Aldosteronproduktion beruht.

Die hormonale Aktivitätsänderung könnte dabei die Folge der beträchtlichen renalen Natriumverluste sein, die in den ersten Stunden nach der Injektion des 6-AN auftreten. Die Untersuchungen verschiedener Autoren haben nämlich gezeigt, daß Natriumentzug zu einer Produktionssteigerung der Nebennieren führt (FARREL, 1958).

Bei dieser Erklärung unserer Ergebnisse wäre dann aber nicht ohne weiteres verständlich, warum nicht auch die Abnahme der tubulären Rückgewinnung unter der Einwirkung des Aldosterons kompensiert wird. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Elektrolytverteilung in der 7. Stunde nach Gabe von 6-AN gemessen wurde. Zu diesem Zeitpunkt waren aber die Natriumverluste bereits geringer geworden. Es ist nicht ausgeschlossen, daß auch diese Reduktion auf einer hormonalen Wirkung beruht.

Die Abnahme der Natriumausscheidung der adrenaletomierten Tiere kann durch eine Verringerung der glomerulären Filtration erklärt werden, die mit der Verschlechterung des Allgemeinzustandes auftritt.

Die Bedeutung der Funktion der NAD- bzw. NADP-abhängigen Enzymsysteme für die Aktivität des Ionentransports in der Niere und in anderen Organen läßt sich auch aus unseren Untersuchungen mit 3-AP ableiten. 3-AP bewirkt ebenso wie das 6-AN eine Abnahme der tubulären Rückgewinnung von Natriumionen. Auch hierbei kommt es zu einer Steigerung der Natriumkonzentration im Harn, ohne daß die Wasserausscheidung in entsprechendem Maße gefördert wird. Dies spricht für einen distalen Angriffspunkt. Stop flow Untersuchungen wurden mit dieser Substanz allerdings bisher nicht durchgeführt.

Eine weitere Übereinstimmung mit dem 6-AN-Effekt zeigt sich bei der Messung der Elektrolytverteilung in der Leber. Auch hier nehmen der gesamte Natriumgehalt und die intracelluläre Natriumkonzentration zu. Dieser Befund spricht für eine Inaktivierung des aktiven Natriumtransports.

Zusammenfassung

An Ratten wurde untersucht, ob die Injektion von 6-AN oder 3-AP, die zur Bildung von NAD- bzw. NADP-Analoga führt, den Ionentransport in der Niere und in anderen Geweben beeinflußt.

Die Zufuhr von 6-AN bewirkt nach einer zweistündigen Latenzperiode eine Vermehrung der renalen Natriumausscheidung. In der 5. Stunde erreicht die Störung ihr Maximum. Die Natriumkonzentration im Harn steigt an, ohne daß dabei das Harnvolumen erhöht ist. Die Kaliumausscheidung wird reduziert. Die Menge der retinierten Kaliumionen entspricht jedoch nur 5% der vermehrt eliminierten Natriumionen.

Clearanceuntersuchungen zeigen, daß 6-AN die tubuläre Rückgewinnung von Natriumionen reduziert.

Stop flow Experimente sprechen für eine distale Lokalisation der Störung. In dem gleichen Abschnitt zeigte sich auch die Wirkung des Aldosterons.

Die durch 6-AN hervorgerufenen Veränderungen (vermehrte Elimination von Natriumionen bei Reduktion der Kaliumausscheidung) beruhen jedoch nicht auf einer Blockierung der Aldosteronwirkung. Das Hormon hat einen gleichen Effekt, unabhängig davon, ob die Tiere 6-AN erhalten haben oder nicht.

Auch die Produktion der Mineralocorticoide wird unter dem Einfluß des 6-AN nicht ausgeschaltet. Die renale Wirkung des 6-AN tritt auch bei adrenaletomierten Tieren auf.

Die Wirkungsintensität eines proximal angreifenden Diureticums (Chlorothiazid) wird unter dem Einfluß der durch 6-AN bedingten distalen Resorptionsminderung verstärkt.

Der Effekt des Triamterenes, eines distal angreifenden Diureticums, wird durch 6-AN aufgehoben. Vorbehandlung mit Triamterene verhindert die durch 6-AN hervorgerufenen renalen Funktionsstörungen. Der Mechanismus der gegenseitigen Wirkungsauhebung wird diskutiert.

6-AN beeinflusst den Natriumtransport auch extrarenal.

In der Leber steigt die intracelluläre Natriumkonzentration bei Reduktion der extracellulären Natriumkonzentration an. Die Abnahme des Natriumkonzentrationsquotienten spricht für eine Störung des aktiven Natriumtransports.

In der Skelettmuskulatur werden die intracellulären Kaliumkonzentrationen und der Konzentrationsquotient erhöht. Die intracelluläre Natriumkonzentration wird reduziert. Diese Veränderungen treten nur bei Anwesenheit der Nebennierenrindenhormone auf.

Applikation von 3-AP führt in der Niere und in der Leber zu ähnlichen Störungen wie 6-AN. Die Elimination der Natriumionen im Harn steigt an. Die intracelluläre Natriumkonzentration in der Leber wird bei herabgesetzter extracellulärer Konzentration erhöht.

Literaturverzeichnis

- BRAUN, W.: Untersuchungen über den aktiven Transport organischer Säuren und Basen in Nierenschnitten.
Habilitationsschrift, Hamburg, 1962.
- BRUNNEMANN, A.,
H. COPER und H. HERKEN: Isolierung von 3-Acetylpyridin-Adenin-dinucleotid (3-APAD) aus dem Gehirn 3-Acetylpyridinvergifteter Ratten.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharm. 244, 223 (1962).
- BRUNNEMANN, A.,
H. COPER und D. NEUBERT: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharm. (im Druck)
- COGGESHALL, R. E. und
P. D. McLEAN: Hippocampal Lesions following Administration of 3-AP - Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 98, 687 (1958)
- COPER, H. und
H. HERKEN: Schädigung des Zentralnervensystems durch Antimetaboliten des Nikotinsäureamids.
Dtsch. med. Wschr. 88, 2025 (1963).
- COPER, H. und
D. NEUBERT: Reaktionsgeschwindigkeit NADP-abhängiger Oxydoreduktasen aus Rattengehirn mit 3-Acetylpyridin-Adenin-dinucleotid-Phosphat
J. Neurochem. 10, 513 (1963)
- DIETRICH, L. S.,
J. M. FRIEDLAND und
L. L. KAPLAN: Pyridin Nucleotide Metabolism:
Mechanism of Action of the Niacin Antagonist 6-AN
J. Biol. Chem. 233, 964 (1958)
- DIETRICH, L. S.,
L. A. KAPLAN,
I. M. FRIEDLAND und
D. S. MARTIN: Quantitative Biochemical Differences between Tumor and Host Tissue.
VI 6-AN Antagonism of DPN-dependent Enzymatic Systems
Cancer Res. 18, 1272 (1958)
- DULCE, H. J. und
T. GÜNTHER: Steuerung des cellulären Elektrolyt- und Wassergehalts durch Hormone.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharm. 238, 368 (1960).
- FARAH, A.,
M. FRAZER und
E. PORTER: Studies on the Uptake of N⁶-Methylnicotinamide by Renal Slices of the Dog.
J. Pharm. exp. Ther. 126, 202 (1959).

- FARREL, G.: Regulation of Aldosterone Secretion
Phys. Rev. 38, 709 (1958). Dort weitere Literaturangaben.
- FÜHR, J.,
J. KACZMARCZYK und
C. D. KRÜTTGEN: Eine einfache colorimetrische Methode
zur Inulinbestimmung für Nieren-Clearance-Untersuchungen bei Stoffwechselgesunden und Diabetikern.
Klin. Wschr. 1955, 729.
- GRIFFITHS, D. E. und
R. A. CHAPLAIN: Some Properties of a New Phosphorylated
Derivative of NAD, an Intermediate of
Oxidative Phosphorylation.
Biochem. and Biophys. Res. Com. 8 (1962).
- GÜNTHER, T.,
H. J. DULCE und
E. SCHÜTTE: Der Einfluß von 2,4-DNP auf die intra-
und extracelluläre Elektrolytverteilung
in vivo.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path.
Pharm. 239, 278 (1960).
- HEINZ, E.: Physiologie, Biochemie und Energetik
des aktiven Transports.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path.
Pharm. 245, 10 (1963).
- HERKEN, H. und
G. SENFT: 2, -4, -7-Triamino-6-phenylpteridin als
ein "Aldosteronantagonist".
Klin. Wschr. 39, 1205 (1961).
- HERKEN, H.,
G. SENFT, W. SCHWARZ
und H. J. MERKER: Struktur und Funktion der Glomerula
nach Einwirkung von Glucocorticoiden
bei der Aminonucleosidnephrose.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path.
Pharm. 245, 289 (1963).
- HICKS, S. P.: Pathologic Effekts of Antimetabolites
I. Acute Lesions in the Hypothalamus,
peripheral Ganglia and Adrenal Medulla
caused by 3-AP and prevented by NA.
Amer. J. Path. 31, 189 (1955).
- HOFFMANN, J. F.: zitiert nach: HEINZ, E.
Physiologie des aktiven Transports
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path.
Pharm. 245, 28 (1963).

- JOHNSON, W.J. und
J.D. McCOLL: 6-AN a Potent Nicotinamide Antagonist
Science 122, 834 (1955).
- JOHNSON, W.J. und
J.D. McCOLL: Antimetabolic Activity of 6-Aminonikotin-
amide
Fed. Proc. 15, 284 (1956).
- KAPLAN, N.O.
und M.M. CIOTTI: Chemistry and Properties of the
3-Acetylpyridine-Analogue of DPN.
J. Biol. Chem. 221, 823 (1955).
- KAPLAN, N.O.,
A. GOLDIN,
S.R. HUMPHREYS,
M.M. CIOTTI und
J.M. VENDITTI: Significance of Enzymatically
Catalysed Exchange Reactions in
Chemotherapy.
Science 120, 437
(1954).
- KESSLER, R.H.,
K. HIERHOLZER,
R.S. GURD und
R.F. PITTS: Localisation of Action of Chlorothiazide
in the Nephron of the Dog
Amer. J. Physiol.
196, 1346 (1959).
- KEYNES, R.D.: zitiert nach: HEINZ, E.
Physiologie des aktiven Transports
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp.
Path. Pharm. 245, 28 (1963).
- KOCZOREK, K.R.: Pharmakologie der Spirolactone
In: KRÜCK, KOCZOREK und BETZIEN
Klinische Anwendung der Aldosteron-
Antagonisten
Stuttgart: Thieme 1962.
- MALVIN, R.L.,
S. WILDE und
L.P. SULLIVAN: Localisation of Nephron Transport by
Stop Flow Analysis
Amer. J. Physiol. 194, 135 (1958).
- MUDGE, J.H.: Elektrolyte Metabolism of Rabbit Kidney
Slices: Studies with Radioactive Potassium
and Sodium.
Amer. J. Physiol. 173, 511 (1953).
- NEUHOFF, V.: unveröffentlicht.
- NEUHOFF, V.,
F. WILLING und
H. HERKEN: unveröffentlichte Versuche
1963.
- PITTS, R.F.: Some Reflections on Mechanism of
Action of Diuretics
Amer. J. Med. 24, 745 (1958).

- SENFT, G. : Über den Mechanismus und die Lokalisation der renalen Wirkung von 2, -4, -7-Triamino-6-phenylpteridin.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharm. 243, 352 (1962).
- SENFT, G. und W. LOSERT: Der Einfluß von Aldosteron und Aldosteron-antagonisten auf die Verteilung von Elektrolyten zwischen dem intra- und extracellulären Raum.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharm. 245, 113 (1963).
- SPERBER, I. : The Excretion of Piperidine, Guanidine, Methylguanidine and N⁶-methylnicotinamide in the Chicken.
Ann. Roy. Agric. Coll. Sweden 16, 49 (1948).
- SPERBER, I. : Competitive Inhibition and Specifity of Renal Tubular Transport Mechanism.
Arch. int. Pharmacodyn. 97, 221 (1954).
- STERNBERG, R. L. und F. S. PHILIPS: 6-AN and Acute Degenerative Changes in the CNS
Science 127, 644 (1958).
- ULLRICH, K. J. : Lokalisation des Stofftransports in der Niere.
In: Nierensymposion
Göttingen 1959 - Stuttgart: Thieme 1960.
- VANDER, A. J., W. S. WILDE und R. L. MALVIN: A Theoretical Mode of Action of Aldosterone
J. Theoret. Biol. 2, 236 (1961).
- VANDER, A. J., R. L. MALVIN, W. S. WILDE und L. P. SULLIVAN: Localisation of the Site of Action of Chlorothiazide by Stop-Flow-Analysis
J. Pharm. exp. Ther. 125, 19 (1959).
- WAHLER, B. E. : Bestimmung von 2-20 γ Inulin in tierischem Gewebe.
Hoppe-Seylers Zschr. physiol. Chem. 306, 84 (1956).
- WIEBELHAUS, V. D., J. WEINSTOCK, F. T. BRENNAN, G. SOSNOWSKI und T. J. LARSEN: A Potent, non-steroidal orally active Antagonist of Aldosterone.
Fed. Proc. 20, 409 (1961).

WOLF, A. und
D. COWEN:

Pathological Changes in the CNS
Produced by 6-AN.
Bull. N. Y. Acad. Med. 35, 814 (1959).

ZEH, E. und
F. KRÜCK:

Aldactone bei der Behandlung der
chronischen Herzinsuffizienz.
In: KRÜCK, KOCZOREK und BETZIEN
Klinische Anwendung der Aldosteron-
Antagonisten.
Stuttgart: Thieme 1962.

Herrn Professor Dr. med. H. HERKEN und
Herrn Privatdozent Dr. med. G. SENFT dan-
ke ich für Anregungen und Ratschläge.

LEBENS LAUF

Ich wurde am 8.10.1938 als Tochter des Bauunternehmers Arthur Zemisch und seiner Ehefrau Ilse, geborene Scheel in Berlin geboren.

1943 wurde unsere Familie nach Landsberg/Warthe evakuiert; dort kam ich 1944 zur Schule. 1945 kehrten wir nach Berlin zurück. Ich besuchte hier eine Volksschule und die Sophie-Scholl-Schule in Schöneberg, an der ich 1957 die Reifeprüfung bestand.

Im Sommer 1957 wurde ich an der Freien Universität immatrikuliert und studierte hier bis zum Physikum 1959. Nach einem Studiensemester in Innsbruck setzte ich mein Studium an der Freien Universität Berlin fort. Im April 1963 bestand ich das medizinische Staatsexamen. Die Dissertation begann ich 1963. Seit Mai 1963 arbeite ich als Medizinalassistentin am Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin.

WILHELM VON HUMBOLDT

Wilhelm von Humboldt (1767-1835) war ein deutscher Philosoph, Sprachwissenschaftler, Politiker und Diplomat. Er war einer der wichtigsten Vertreter der Aufklärung und des Humanismus in Deutschland. Er war auch ein wichtiger Begründer der modernen Linguistik und der Pädagogik. Er war ein wichtiger Vertreter der Aufklärung und des Humanismus in Deutschland. Er war auch ein wichtiger Begründer der modernen Linguistik und der Pädagogik. Er war ein wichtiger Vertreter der Aufklärung und des Humanismus in Deutschland. Er war auch ein wichtiger Begründer der modernen Linguistik und der Pädagogik.

